

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

année 1899

THÈSE

N°

524

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le jeudi 13 juillet 1899, à 1 heure

Par P.-G. CHARPENTIER

Né à Montpellier (Hérault), le 12 décembre 1866

Licencié ès-sciences physiques et ès-sciences naturelles

Préparateur à l'Institut Pasteur

Préparateur adjoint à la Faculté des sciences

INJECTIONS INTRA-CÉRÉBRALES DE TOXINES

Président : M. CHANTEMESSE, professeur.

*Juges : } MM. GRANCHER, professeur.
MENÉTRIER et ACHARD, agrégés.*

*Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les différentes parties
de l'enseignement médical.*

PARIS

JOUBE ET BOYER

IMPRIMEURS DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

15, rue Racine, 15

1899

524

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552222_0046

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1896

THÈSE

N° —

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le jeudi 13 juillet 1899 à 1 heure

Par P. G. CHARPENTIER

Né à Montpellier (Hérault), le 12 décembre 1836

Licencié ès-sciences physiques et ès-sciences naturelles

Préparateur à l'Institut Pasteur

Préparateur ad joint à la Faculté des sciences

INJECTIONS INTRA-CÉRÉBRALES
DE TOXINES

Président : M. CHANTEMESSE, professeur.

*Juges : } MM. GRANCHER, professeur.
 } MENÉTRIER et ACHARD, agrégés.*

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'enseignement médical.

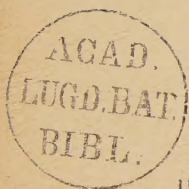
PARIS

JOUBE ET BOYER

IMPRIMEURS DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

15, rue Racine, 15

1899



FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Docteurs. Professeurs		M. BROUARDEL MM.
Anatomie.		FARABEUF.
Physiologie.		CH. RICHET.
Physique médicale.		GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale.		GAUTIER.
Histoire naturelle médicale.		BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales.		ROUCHARD.
Pathologie médicale.		DEBOVE.
Pathologie chirurgicale.		HUTINEL.
Anatomie pathologique.		LANNELONGUE
Histologie.		CORNIL.
Opérations et appareils.		MATHIAS DUVAL
Matière médicale et pharmacologie.		TERRIER.
Thérapeutique.		POUCHET.
Hygiène.		LANDOUZY
Médecine légale.		PROUST.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.		EROUARDEL.
Pathologie expérimentale et comparée.		N.....
		CHANTEMESSE
Clinique médicale.		POTAIN.
		JACCOUD.
		HAYEM.
		DIEULAFOY
		GRANCHER.
Maladie des enfants.		JOFFROY.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale.		FOURNIER.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.		RAYMOND.
Clinique des maladies du système nerveux.		BERGER.
		DUPLAY.
Clinique chirurgicale.		LE DENTU
		TILLAUX.
Clinique ophthalmologique.		PANAS.
Clinique des maladies des voies urinaires.		GUYON.
Clinique d'accouchements.		BUDIN.
		PINARD.

Agrégés en exercice.

MM.			
ACHARD	DESGREZ	LEJARS	THIROLOIX
ALBARRAN	DUPRÉ	LEPAGE	THOINOT
ANDRE	FAURE	MARFAN	VAQUEZ
BONNAIRE	GAUCHER	MAUCLAIRE	VARNIER
BROCA (AUG.)	GILLES DE LA	MENETRIER	WALLICH
BROCA (ANDRÉ)	TOURETTE	MERY	WALTHER
CHARRIN	HARTMANN	ROGER	WIDAL
CHASSEVANT	LANGLOIS	SEBILEAU	WURTZ
DELBET	LAUNOIS	TEISSIER	
	LEGUEU	THIERY	

Chef des Travaux anatomiques : M. RIEFFEL.

Par délibération en date du 9 décembre 1793, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MES MAÎTRES DANS LES HÔPITAUX

MONSIEUR LE DOCTEUR POLAILLON

Chirurgien honoraire de l'Hôtel-Dieu.

Professeur agrégé.

Membre de l'Académie de médecine.

MONSIEUR LE DOCTEUR RENDU

Médecin de l'hôpital Necker.

Professeur agrégé.

Membre de l'Académie de médecine.

*Qui nous ont accueilli avec la plus grande bienveillance et n'ont
jamais cessé de nous témoigner le plus vif intérêt.*

A LA GRANDE MÉMOIRE
DE MONSIEUR PASTEUR

A MESSIEURS

DUCLAUX

Membre de l'Institut.
Directeur de l'Institut Pasteur.

DOCTEUR ROUX

Membre de l'Institut.
Sous-directeur de l'Institut Pasteur.

Respectueux hommage de profonde reconnaissance.

A

MONSIEUR LE DOCTEUR CHANTEMESSE

Professeur de pathologie expérimentale.
Médecin des hôpitaux.

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre thèse

INJECTIONS INTRA-CÉRÉBRALES DE TOXINES

INTRODUCTION

La plupart des poisons, qui amènent rapidement la mort, agissent sur le système nerveux, il en est ainsi de certaines toxines microbiennes telles que la toxine tétanique et la toxine diphtérique. Les symptômes et les lésions qu'elles déterminent prouvent que leur action porte surtout sur les centres nerveux. Les substances injectées sous la peau, parviennent à l'axe cérébrospinal et manifestent une affinité particulière pour certaines de ses parties, ce qui nous explique les symptômes spéciaux que causent chacune d'elles.

M. Ehrlich (1) a insisté récemment sur cette affinité des poisons pour le système nerveux. D'après lui il existe dans les cellules nerveuses des groupements chimiques, qui sont comme des chaînes latérales sur lesquelles viennent se fixer des molécules de toxine. Cette fixation est le

1. Ehrlich. *Klin. Jahr. Baud.*, VI, 1897.

premier temps de l'intoxication. Si la mort ne survient pas, de nouvelles chaînes latérales s'organisent plus nombreuses qu'au début, ces groupements surabondants peuvent passer à l'état dissous dans le sang où ils constituent l'antitoxine. C'est ainsi que les choses se passeraient chez les animaux immunisés contre une toxine. L'antitoxine de leur sang vient de leurs cellules nerveuses.

Partant de cette doctrine de M. Ehrlich, M. Wassermann (1) a étudié l'action de la substance cérébrale normale sur la toxine tétanique. Il a constaté que le mélange à proportion convenable de toxine tétanique et de substance nerveuse ne donne plus le tétanos aux souris. Un gramme de cerveau de cobaye suffit à rendre inoffensives 10 doses de toxine mortelles pour la souris. M. Wassermann croit avoir ainsi démontré la réalité de la doctrine de M. Ehrlich et avoir prouvé que l'antitoxine du cerveau normal peut saturer la toxine tétanique.

Pour M. Metchnikoff (2) cette interprétation est inexacte, car la toxine peut être mise en évidence dans le mélange inoffensif pour les souris. M. Knorr (3), MM. Roux et Borrel (4), séparent au moyen de la turbine la matière cérébrale du liquide dans lequel elle est en suspension, ils constatent que celui-ci ne renferme plus de toxine car elle est fixée sur les débris de cerveau rassemblés dans le fond du vase. En effet, en faisant macérer ce dépôt

1. Wassermann et Takaki. *Berl. Klini. Woch.*, 1898, n° 1.

2. Metchnikoff. *Ann. Inst. Past.*, 1898, n° 2.

3. Knorr. *Münch. med. Woch.*, 1898, n° 12.

4. Roux et Borrel. *Ann. Inst. Past.*, 1898, n° 4.

plusieurs jours dans l'eau distillée, M. Danystz (1) a vu que la toxine passait dans le liquide en se séparant de la matière cérébrale modifiée. Le poison tétanique adhérent à la matière cérébrale est inoffensif parce qu'il est passé à l'état insoluble, lorsqu'on l'injecte à cet état aux animaux il est englobé par les phagocytes, surtout les phagocytes mononucléaires et sans doute digéré dans leur intérieur.

MM. Roux et Borrel en injectant la toxine tétanique dans le cerveau des animaux ont provoqué le « tétanos cérébral » dont les symptômes ne rappellent en rien ceux du tétanos ordinaire. L'animal au lieu d'avoir des contractions des membres est pris de crises convulsives fréquentes, de troubles moteurs, de polyurie, etc.. Dans ces expériences la toxine est fixée par les cellules nerveuses avec lesquelles elle est mise en contact et les symptômes varient suivant le point où l'injection a été faite.

« Le véritable intérêt de l'expérience de M. Wassermann est de nous montrer se satisfaisant *in vitro*, « et pour ainsi dire d'une façon tangible cette affinité de « la cellule nerveuse et de la toxine tétanique » (2). Il est donc très intéressant de rechercher si d'autres poisons nerveux se conduisent de même. Beaucoup de recherches ont été entreprises dans ce sens sur des poisons tels que la strychnine, etc... Nous étudierons ici comment se comportent vis-à-vis de la matière nerveuse une toxine microbienne, la toxine diphtérique et des toxines d'ori-

1. Danystz. *Ann. Inst. Past.*, 1899, n° 2.

2. Roux et Borrel. *Loc. cit.*

gine végétale l'abrine et la ricine ; nous dirons aussi quelques mots de la toxine tétanique, envisagée à un point de vue particulier.

Notre cher et vénéré maître le Dr Roux, nous a toujours témoigné la plus grande bienveillance et n'a pas cessé de nous prodiguer ses conseils ; nous n'oublierons jamais tout ce que nous lui devons et nous le prions de vouloir bien recevoir l'expression de toute notre gratitude.

CHAPITRE I

Injection intra-cérébrale de toxine diphtérique.

L'inoculation de toxine diphtérique dans le cerveau « détermine en douze heures, disent MM. Roux et Borrel (1), des paralysies bientôt suivies de mort. Les lésions « ordinaires, à savoir la congestion des capsules surrénales et l'épanchement de sérosité dans les plèvres se « rencontrent chez les cobayes à la suite de l'injection « intra-cérébrale. »

La toxine qui a servi à nos expériences nous a été très obligeamment fournie par nos amis les docteurs L. Martin chef de laboratoire et L. Momont préparateur à l'Institut Pasteur ; nous les en remercions bien vivement. 1/100^e c. c. de cette toxine inoculé sous la peau d'un cobaye de 4 à 500 grammes causait la mort des animaux en trois à six jours ; 1/200 c. c. n'était pas une dose sûrement mortelle.

Si on introduit dans l'un des hémisphères cérébraux d'un cobaye la dose minima mortelle sous la peau, soit 1/100 c. c. l'animal ne paraît pas malade dans les heures qui suivent immédiatement l'opération, mais au bout de quinze

1. Roux et Borrel. *Loc. cit.*

à dix-huit heures il manifeste une légère faiblesse du train postérieur ; mis sur le dos il a de la peine à se remettre sur ses pattes et il ne le fait que lentement ; ce symptôme très peu marqué tout d'abord, va en s'accroissant d'heure en heure et 24 heures après l'inoculation le cobaye présente une paraplégie très nette, qui rend la marche impossible, s'il progresse encore c'est en rampant sur le sol à l'aide de ses pattes antérieures ; les membres postérieurs traînent flasques et inertes ; la paralysie suit une marche ascendante régulièrement progressive, envahit les muscles du tronc, puis ceux des pattes antérieures ; l'animal est alors couché sur le côté absolument inerte, les mouvements respiratoires seuls montrent qu'il est encore en vie ; néanmoins il n'est pas rare de constater à cette période de la maladie, de la raideur de la nuque, du grincement des dents en même temps que les membres sont agités de petits mouvements spasmodiques courts et répétés. L'animal meurt 36 à 48 heures après l'inoculation.

A l'autopsie on ne relève que de légères lésions des organes ; dans le cerveau la piqûre de l'aiguille est invisible, la substance cérébrale ne présente rien d'anormal au point d'inoculation, les vaisseaux des méninges sont quelquefois très injectés, les ganglions des aînes et des aisselles un peu rouges, les poumons souvent un peu splénisés ; il n'y a pas toujours d'épanchement dans les plèvres ; les reins et les capsules surrénales sont un peu congestionnés.

Point n'est besoin de 1/100 cc. de toxine pour tuer un cobaye, 1/500 cc. et même 1/1000 cc. inoculés dans le cerveau sont des doses sûrement mortelles ; mais alors

la maladie est plus longue, les premiers signes de paralysie ne paraissent qu'au bout de trois ou quatre jours et l'animal meurt en une semaine environ. A l'autopsie, les lésions macroscopiques sont encore moins accentuées que quand l'animal a reçu 1/100 cc.

Une quantité de toxine encore plus faible 1/10.000 cc. n'est pas sûrement mortelle. Un cobaye qui avait reçu cette si petite dose dans le cerveau a commencé à être paralysé le vingt-troisième jour et est mort le trente-quatrième; un autre inoculé dans les mêmes conditions n'a rien présenté d'anormal. Nous avons pu fixer à 1/1000 cc. la dose minima sûrement mortelle dans le cerveau.

Si on met dans l'encéphale d'un cobaye une dose énorme de toxine 1/10 cc. par exemple, la maladie évolue très rapidement, soit en trente-six heures. A l'autopsie, les lésions ordinaires sont très prononcées.

En résumé, plus la dose inoculée dans la substance cérébrale sera forte, plus brève sera l'incubation de la maladie, plus courte aussi son évolution; les lésions à l'autopsie sont aussi d'autant plus accentuées.

La marche de la température ne présente rien de remarquable; celle-ci reste normale et ne s'abaisse légèrement que dans les dernières heures de la vie, au moment où la paralysie est totale; elle est alors au voisinage de 36°5.

Les lapins se comportent comme les cobayes quand on introduit de la toxine diphtérique dans leur cerveau. Tandis qu'ils succombent en une dizaine de jours à la suite d'une inoculation sous cutanée de 1/50 c.c. et même 1/100 c.c. de toxine 1/500 cc. voire même 1/1000 c.c.,

mis dans leur cerveau, les tue en une semaine environ, après une incubation de 3 à 5 jours. Naturellement des doses plus fortes 1/10 c.c. amènent la mort des animaux beaucoup plus rapidement souvent en 36 heures.

Les symptômes chez le lapin sont les mêmes que chez le cobaye, la marche progressivement ascendante de la paralysie est plus facile à observer chez celui-là; les différents stades en sont plus distincts les uns des autres; c'est d'abord une légère parésie des pattes de derrière, le psoas étant intact, le lapin donne des coups de rein aussi vigoureux que d'habitude; puis le psoas est frappé d'impotence fonctionnelle, l'animal est paraplégique; ses membres antérieurs sont intacts, enfin ceux-ci se prennent à leur tour. La maladie suit une marche régulièrement progressive des plus intéressantes à suivre; la mort est vraisemblablement produite par l'extension au bulbe du processus paralytique. Souvent l'animal éprouve une grande gêne respiratoire, qui lui donne une attitude toute spéciale; ses pattes antérieures ayant encore leur puissance musculaire intacte, reposent sur le sol, sa tête est renversée en arrière comme si les muscles de la nuque étaient contracturés, la respiration est très précipitée, tandis que le train postérieur est frappé d'une paralysie complète (il y a même de l'incontinence d'urine). À l'autopsie on constate souvent de la congestion des ganglions des aînes et des aisselles, de la dilatation des vaisseaux.

L'injection intracérébrale de toxine diphtérique aux poules est suivie de symptômes semblables à ceux observés chez le lapin et le cobaye; les phénomènes paralytiques suivent la même marche ascendante.

Les paralysies diphtériques expérimentales ont été signalées et étudiées pour la première fois par MM. Roux et Yersin (1); ces savants les produisaient en inoculant sous la peau ou dans les veines des animaux des toxines faibles, mais les résultats obtenus chez les cobayes et les lapins étaient irréguliers; la maladie mettait parfois fort longtemps à se déclarer, il arrivait bien souvent que la mort survenait par suite des progrès de la cachexie et sans aucun symptôme paralytique. Par contre l'inoculation intra-cérébrale de toxine diphtérique donne toujours et à coup sûr des paralysies typiques, absolument identiques à celles décrites par MM. Roux et Yersin, mais qui se déclarent quelques heures après l'intoxication et sont très rapidement mortelles. Qu'elles proviennent d'une inoculation intra-cérébrale ou d'une inoculation sous-cutanée les paralysies diphtériques sont donc identiques. Après l'injection de toxine sous la peau, les paralysies sont tardives parce que sans doute le poison n'arrive que lentement dans les centres nerveux; vient-on à mettre celui-ci directement au contact des cellules nerveuses, les troubles moteurs paraissent au bout de quelques heures.

La marche ascendante de la paralysie qui débute toujours par les parties postérieures semble indiquer que les parties inférieures de la moelle sont atteintes les premières, que la toxine soit injectée dans les lobes cérébraux ou sous la peau.

On n'observe point après l'injection intra-cérébrale du poison diphtérique une *diphtérie cérébrale* comparable au

1. Roux et Yersin. *Ann. Inst. Past.*, 1888.

tétanos cérébral dans lequel les centres psychiques et moteurs de l'encéphale sont manifestement intéressés. Les centres moteurs des hémisphères sont-ils frappés comme les cellules de la moelle ; il peut se faire qu'il en soit ainsi, et si la paralysie débute par les pattes postérieures c'est peut-être à cause de la sensibilité plus grande des cellules de la moelle qui réagiraient les premières à l'action de la toxine diphtérique.

La maladie évolue autrement si au lieu d'être portée dans les hémisphères cérébraux la toxine est mise dans le cervelet ; un lapin qui avait reçu le poison dans le cervelet n'a pas présenté de paralysie mais une grande incoordination motrice.

Après l'injection intra-cérébrale de toxine diphtérique, la maladie ne se déclare jamais immédiatement, il existe toujours une incubation de 15 heures au minimum, même quand la mort doit survenir en 48 heures.

Les paralysies causées par une inoculation de toxine dans le cerveau du cobaye ou du lapin sont presque toujours mortelles, et nous n'avons vu que deux fois la maladie rétrocéder. Deux cobayes après avoir présenté une paraplégie très nette ont recouvré peu à peu l'intégrité des mouvements, l'un avait reçu un peu de toxine chauffée, l'autre un mélange de toxine et de liqueur de Gram dans le cerveau.

Lorsqu'on introduit de la toxine tétanique dans le cerveau d'un animal, celle-ci est fixée par les cellules au contact desquelles elle est mise et les symptômes tétaniques dépendent des fonctions de la région intéressées, il n'en est pas de même avec la toxine diphtérique qui ne

paraît pas provoquer chez les animaux des troubles psychiques lorsqu'on les met directement dans les hémisphères cérébraux, mais qui donne d'abord de la paralégie avec paralysie progressive.

Faisons avec la toxine diphtérique et du cerveau de cobaye l'expérience de M. Wassermann, nous voyons, ainsi que M. Bomstein (1) l'a indiqué, que l'addition du cerveau au poison diphtérique ne lui enlève nullement son activité; cependant en suivant ce qui se passe après qu'on a injecté le mélange sous la peau d'un cobaye, il est facile de constater que les phagocytes mononucléaires englobent la matière cérébrale absolument comme dans les cas du mélange de cerveau et des toxines tétanique. Si le résultat des deux expériences est si différent, cela provient sans doute de ce que la matière cérébrale ne fixe pas la toxine. Cela est d'autant plus probable que les expériences de M. Stoudensky (2), nous ont appris que le poison diphtérique adhérent au carmin ne tue pas les cobayes, parce que sous cette forme solide il est englobé par les cellules phagocytaires en même temps que les grains de carmin et sans doute détruit dans leur intérieur.

Il est facile en soumettant à l'action de la turbine le mélange de matière cérébrale et de toxine de voir si celle-ci disparaît du liquide et se concentre sur les débris du cerveau.

Nous diluons la toxine avec de l'eau stérile de manière à faire les solutions suivantes :

1. Bomstein. *Centr. f. Bakt.*, 1898, XXIII, n° 11.

2. Stoudensky. *Ann. Inst. Pact.* 1899, n. 2.

Sol. à 1/10 dont 1 cc. contient 1/10 cc. de toxine.

— 1/50 — 1 cc. — 1/50 cc. —

— 1/100 — 1 cc. — 1/100 cc.

Nous faisons ensuite les mélanges suivants :

M10 } Sol. à 1/10 — 2 cc.
Cerveau de cobaye 1 gr.

M50 } Sol. à 1/50 — 2 cc.
Cerveau de cobaye 1 gr.

M100 } Sol. à 1/100 — 2 cc.
Cerveau de cobaye 1 gr.

Le cerveau est bien broyé dans la toxine, puis les mélanges sont laissés en repos pendant 3 heures 1/2 ; nous les mettons ensuite dans la turbine pendant 19 heures. Au bout de ce temps nous décantons le liquide qui surnage sur la matière cérébrale, chaque mélange nous fournit ainsi 1 cc. de liquide clair que nous inoculons à des cobayes sous la peau ; ceux-ci meurent dans les délais suivants :

Cob. I p. = 470 gr. 1 cc. de liquide de M10 meurt en 24 à 30 h.

— II 420 gr. 1 cc. — M50 — 33 à 45 »

Cob. III 440 gr. 1 cc. — M100 48 heures.

témoins } Cob. IV p. 420 gr. 1 cc. de sol à 1/50 mt. en 33 à 45 h.
— V 400 gr. 1 cc. — 1/100 — 33 à 45 h.

L'expérience ne laisse aucun doute ; la toxine diphtérique n'est pas fixée par la matière cérébrale avec laquelle on la met en contact bien qu'elle aussi soit un poison de la substance nerveuse (1).

1. Même en opérant beaucoup plus rapidement, on obtient toujours le même résultat ; c'est ce que nous avons vu dans une expérience

On pourrait objecter que la toxine diphtérique n'a aucune affinité pour les cellules cérébrales, mais qu'elle se fixe au contraire sur les cellules de la moelle épinière et que c'est ce qui explique la paralysie débutant toujours par les pattes postérieures chez les animaux.

Pour le savoir, refaisons l'expérience en mettant en contact les diverses parties de la moelle épinière (cervicale, dorsale, lombaire) avec la toxine diphtérique. Le résultat est toujours le même, aucune partie de l'axe cérébro-spinal ne fixe *in vitro* la toxine diphtérique.

qui a été conduite de telle façon que le cerveau et la toxine sont restés au contact seulement pendant deux heures.

CHAPITRE II

Injection intra-cérébrale de toxine diphtérique modifiée par divers agents.

Action de la chaleur. — Dans leur mémoire sur la toxine diphtérique, MM. Roux et Yersin (1) ont reconnu que la toxine chauffée 2 heures à 58°, ou même 20 minutes à 100° a perdu la plus grande partie de sa toxicité, mais n'en est pas complètement dépouillée; les animaux qui reçoivent des doses énormes (35 cc. d'un liquide actif au 1/10 c.c.) de ce liquide chauffé, après s'être bien portés pendant les premiers jours qui suivent l'inoculation, finissent toujours par succomber à la suite d'un très grand amaigrissement et souvent après avoir présenté des phénomènes paralytiques dans les jours qui précèdent immédiatement la mort.

Ces faits ont été reconnus par tous les expérimentateurs, nous les avons constatés nous-mêmes de la façon la plus nette; la toxine est d'autant plus modifiée que la température à laquelle elle est soumise est plus élevée et que pour une température donnée la durée du chauffage est plus grande.

1. Roux et Yersin, *loc. cit.*

1/2 cc. (c'est-à-dire 50 fois la dose mortelle) de toxine chauffée 2 heures à 58°, inoculée sous la peau d'un cobaye ont provoqué la formation d'un très gros œdème, puis d'une nécrose de la peau et l'animal a survécu; cette même dose a tué un lapin en 5 jours 1/2, en le faisant maigrir de près de 100 grammes par jour. Portée à 115° pendant 10 minutes la toxine est suffisamment modifiée pour être devenue inoffensive aussi bien pour les cobayes que pour les lapins.

Nous allons comparer les effets de la toxine chauffée suivant qu'elle est mise sous la peau ou dans le cerveau des animaux.

Dans toutes nos expériences la toxine était chauffée dans une ampoule close complètement remplie, qui était immergée dans un bain-marie maintenu à température constante; par exception la toxine chauffée à 115° était contenue dans un tube à essai ouvert mis à l'autoclave. La toxine était diluée avec de l'eau stérile de manière que la quantité de liquide injectée dans le cerveau fût toujours de 1/10 cc, et celle injectée sous la peau des témoins de 1 cc. Dans tous les cas la toxine n'était diluée qu'après le chauffage.

La toxine soumise à une température de 115° pendant 10 minutes n'est plus du tout toxique, les lapins, les cobayes, qui reçoivent jusqu'à 2/10 cc de cette toxine dans le cerveau continuent à se bien porter et même augmentent de poids. Une toxine maintenue à 100° pendant 1/4 d'heure reste moins nocive pour les animaux. Chez les cobayes qui en reçoivent 1/10 cc dans le cerveau, la paralysie survient au bout d'un temps plus ou moins long, 10 et même 15 jours, et suit sa marche typique, mais la

maladie dure longtemps une dizaine de jours en moyenne ; cette dose 1/10 cc doit du reste être assez voisine de la dose minima mortelle, 1/100 cc ne donne jamais la mort. Un de nos cobaye qui avait reçu 1/10 cc de toxine chauffée pendant 1/4 d'heure à 100° a été atteint d'une paraplégie qui a guéri ; la paralysie n'avait éclaté qu'au bout d'un mois.

Ajoutons que, comme nous l'avons déjà dit, 10 cc de cette toxine chauffée inoculés sous la peau d'un cobaye provoquent la formation au point d'inoculation d'un gros œdème qui se termine par une nécrose de la peau et l'animal se rétablit.

Le tableau suivant résume les résultats de nos expériences en indiquant les doses minima mortelles sous la peau et dans le cerveau chez les cobayes.

Lieu d'inoculation.	Toxine chauffée à 100°	Toxine non chauffée
—	—	—
Sous la peau	Plus de 10 cc.	1/100 cc.
Dans le cerveau.	1/10 cc.	1/1000 cc.

Si donc avant le chauffage la toxine est 10 fois plus active dans le cerveau que sous la peau, elle le sera plus de 100 fois après, restant ainsi après chauffage beaucoup plus toxique dans la substance nerveuse que dans le tissu cellulaire sous-cutané.

En résumé la toxine diphtérique qui a subi l'action de la chaleur, ne fût-ce que de 58°, a perdu une très grande partie de son pouvoir toxique ; cependant cette diminution d'activité est plus manifeste à la suite des inocula-

tions sous-cutanées qu'après celles qui sont faites dans le cerveau.

La toxine diphtérique n'est pas détruite complètement à 100°, elle ne l'est qu'à 115°.

Nous avons vu dans l'étude des injections intra-cérébrales que de très petites doses de toxine (1/10,000 cc. par ex.) mis dans le cerveau déterminent souvent des paralysies au bout d'une incubation très longue. Les animaux qui reçoivent dans l'encéphale de grandes quantités de toxine chauffée (2/10 cc.) se comportent en somme comme ceux auxquels on inocule de très petites quantités de toxine non chauffée. Les choses se passent comme si la chaleur modifiait lentement la toxine n'en laissant subsister que des portions de plus en plus petites suivant le temps du chauffage et le degré de la température.

De plus comme la dose minima mortelle sous la peau, qui équivalait à dix doses minima mortelles dans le cerveau avant le chauffage, équivaut après chauffage à cent de ces doses, il en résulte que la toxine chauffée est probablement plus facilement détruite que la toxine non chauffée par les cellules de l'organisme.

Action de l'iode. — Bien des substances chimiques peuvent modifier l'action des toxines sur les animaux.

Le trichlorure d'iode (1), l'iode (2), le permanganate de potasse (3), les hypochlorites alcalins (4) mélangés à la

1. Behring. *Deut. med. Woch.*, 1890, n° 50.

2. Roux. *Ann. Inst. Past.*, 1891, p. 527.

3. Roux et Vaillard. *Ann. Inst. Past.*, 1893, p. 73.

4. Roux et Martin. *Ann. Inst. Past.*, 1894, p. 612.

toxine diphtérique et à la toxine tétanique rendent ces poisons beaucoup moins dangereux pour les animaux.

De tous ces corps l'iode est le plus facile à manier, aussi est-il l'un des plus employés pour les vaccinations des animaux contre le tétanos et la diphtérie. C'est de son action exclusivement que nous nous occuperons dans ce qui va suivre.

« Nous ne connaissons pas la modification que l'iode fait subir à la toxine ; la réaction se produit pour ainsi dire instantanément dès que le mélange est fait ; il est inutile d'attendre que la teinte de l'iode ait disparu » (1). L'iode agit-il en provoquant une oxydation, ou en se substituant à l'hydrogène dans la molécule de toxine ? nous ne le savons pas.

Si on ajoute de l'iode sous forme de solution iodo-iodurée de Gram, à de la toxine diphtérique, ou de la toxine tétanique le mélange se décolore très rapidement, même en quelques secondes, si la quantité d'iode n'est pas très considérable. Tant que le liquide possède la plus légère teinte brune, il donne avec une solution aqueuse d'amidon soluble la couleur bleue caractéristique de la présence d'iode libre, il ne donne plus cette coloration dès qu'il a repris complètement la teinte de la toxine. L'iode entre donc rapidement en combinaison avec les substances qui se trouvent dans la toxine.

Nous devons remarquer que, comme le dit M. Roux, l'abaissement de toxicité du mélange toxine Gram, n'est pas corrélatif de sa décoloration ; en effet un mélange de

1. Roux et Vaillard, *Ann. Inst. Past.*, 1893, p. 73.

liqueur de Gram et de bouillon (possédant la même alcalinité que la toxine diphtérique) se décolore comme un mélange de toxine et de Gram fait dans les mêmes proportions ; de plus la toxine diphtérique qui a perdu la plus grande partie de son activité par un chauffage à 100° , décolore la liqueur de Gram aussi rapidement que la toxine active. La présence de la substance toxique active dans le liquide n'est donc pas nécessaire pour que l'iode entre en combinaison, la disparition de l'iode libre et la diminution de l'activité de la toxine iodée ne sont pas rigoureusement parallèles.

Nous avons mélangé de la toxine diphtérique avec son volume de liqueur de Gram ; ce liquide est très peu toxique car la dose d'iode est très forte ; aussi les différences que nous pourrions relever entre les résultats de l'inoculation sous-cutanée et de l'inoculation intracérébrale n'en seront que plus marquées, si elles existent.

Dès que le mélange de toxine et de solution iodée est fait, il commence à perdre sa couleur foncée ; au bout de 10 minutes environ toute teinte brune a disparu, il n'y a plus d'iode libre. Nous avons dilué la toxine iodée avec de l'eau stérile.

Les cobayes qui ont reçu ce poison iodé sous la peau à la dose de $1/10$ cc. ou $1/25$ cc. (contenant $1/100$ cc. ou $1/50$ cc. de toxine) n'ont même pas présenté d'œdème au point d'inoculation et se sont toujours bien portés ; $1/5$ cc. du mélange contenant $1/10$ cc. de toxine (c'est-à-dire 10 fois la dose mortelle) faisait périr les animaux au bout d'un temps très long (plus d'un mois). Par contre $1/500$ cc. de toxine iodée, renfermant $1/1000$ cc. de toxine diphté-

térique, mis dans le cerveau des cobayes a causé des paraplégies très nettes suivies de paralysie ascendante se terminant par la mort ; seulement les premiers symptômes ont apparu au bout d'une très longue incubation d'environ 3 semaines et la maladie a duré une semaine environ. Ce résultat est loin d'être constant, il est des animaux qui reçoivent dans le cerveau cette si petite dose de poison iodé sans en éprouver aucun mal.

Si au lieu d'ajouter à la toxine son volume de liqueur de Gram, on n'en ajoute que le tiers, le mélange est plus toxique ; inoculé dans le cerveau de cobayes, il les tue à très petites doses, mais avec une incubation plus courte que dans le cas précédent, les inoculations sous-cutanées sont meurtrières à plus detites doses.

Nous avons, bien entendu, constaté que des mélanges de bouillon et de liqueur de Gram faits dans les mêmes proportions que ci-dessus ne causent aucun mal aux animaux dans le cerveau desquels on les introduit ; d'ailleurs le fait qu'il y a des animaux qui supportent impunément une inoculation intra-cérébrale de toxine iodée prouve surabondamment que ce n'est pas l'iode qui blesse la cellule nerveuse.

Quel est le rôle de l'iode ?

Il n'insensibilise pas la cellule nerveuse contre la toxine, car s'il en était ainsi on pourrait inoculer dans le cerveau 18 à 24 heures avant la toxine un mélange de Gram et de bouillon et constater que l'inoculation de toxine n'est suivie d'aucun effet pathogène. Or l'expérience montre au contraire que dans ces conditions la toxine tue aussi sûrement et aussi rapidement que si l'on avait pas fait d'ino-

culation préventive. L'iode n'agit donc pas directement sur la cellule nerveuse. La même expérience montre qu'il n'excite pas non plus l'activité des cellules qui peuvent détruire le poison.

Nous avons vu précédemment que si l'on inocule dans le cerveau de cobayes des quantités extrêmement faibles de toxine diphtérique, $1/10.000$ c. c. par exemple, il arrive qu'un certain nombre d'animaux reste indéfiniment bien portant, tandis que d'autres prennent des paralysies mortelles au bout d'une incubation très longue de plus d'une vingtaine de jours. Or nous venons de voir que c'est précisément ce qui se passe quand on met de la toxine iodée dans le cerveau des animaux. Inocule-t-on une quantité du mélange toxine Gram (à parties égales) contenant $1/1000$ c. c. de toxine? on observe exactement les mêmes faits que si l'on inoculait $1/10.000$ c. c. de toxine; les choses se passent comme si l'iode avait rendu $9/10.000$ c. c. de toxine inactifs sur $10/10.000$ c. c., $1/10.000$ c. c. seulement restant actif.

Plus le mélange toxine-Gram est riche en iode, moins il est dangereux, la toxicité est fonction de la richesse en iode. Ceci s'explique fort bien en admettant qu'une quantité déterminée d'iode est capable de faire perdre son activité à une quantité déterminée de toxine.

En résumé, il est fort probable que l'iode rend la toxine diphtérique moins dangereuse, parce qu'il rend inactive, peut-être en la détruisant par oxydation, une fraction de la quantité de toxine en face de laquelle il se trouve; la toxine iodée agissant comme une très petite quantité de toxine.

Action de l'acide tartrique. — MM. Roux et Yersin (1) ont reconnu, que si on acidifie franchement avec de l'acide lactique ou de l'acide tartrique la toxine diphtérique on diminue son activité d'une manière très notable.

Quelle modification l'acide fait-il subir à la toxine ? la détruit-il ou la rend-t-il plus facilement destructible par l'organisme ?

Faisons dissoudre des cristaux d'acide tartrique dans de la toxine diphtérique, jusqu'à ce que la réaction soit franchement acide au tournesol ; laissons la toxine et l'acide au contact pendant 5 heures, puis diluons le liquide acide avec de l'eau distillée stérile. Mettons 1/1000 cc. et 1/500 cc. de cette toxine acide dans le cerveau de deux cobayes et inoculons 1/20 cc. sous la peau d'un cobaye témoin. Ce dernier a un petit œdème, qui disparaît rapidement sans même amener une nécrose de la peau ; les 2 animaux inoculés dans le cerveau commencent par se bien porter, mais au bout de 19 et 18 jours, ils sont pris d'une paraplégie typique ; la paralysie a une marche très lentement ascendante, les animaux meurent en 21 et 34 jours.

Par conséquent une dose 5 fois mortelle de toxine acidifiée, mise sous la peau de cobayes, les rend à peine malades, tandis que la dose minima mortelle inoculée dans le cerveau les tue après une très longue incubation.

On voit combien le poison diphtérique est sensible à une simple trace d'acide, il y en a bien peu dans les dilutions que nous avons faites avec de l'eau stérile

1. Roux et Yersin. *Ann. Inst. Past.*, 1889, p. 282.

pour les inoculations intracérébrales et cependant cette si petite quantité a une action bien marquée.

Dans une expérience, un cobaye qui avait reçu dans le cerveau 1/1000 cc. de toxine acidifiée a été pris de paralysie presque en même temps qu'un autre cobaye inoculé dans le cerveau également avec 1/5000 cc. de toxine ; l'incubation avait duré 3 semaines ; les 2 animaux sont morts en même temps.

On serait donc tenté au premier abord de penser que la toxine diphtérique acidifiée a perdu une partie de sa toxicité parce que la substance toxique a été partiellement détruite par l'acide. Cependant les choses ne doivent pas se passer aussi simplement.

En effet, tous les animaux pour ainsi dire qui reçoivent dans le cerveau la dose minima mortelle de toxine acide meurent à la suite de paralysies tardives ; les exceptions extrêmement rares tendent à prouver seulement que ce n'est pas l'acide qui rend les animaux malades — nous avons du reste reconnu que l'eau acidulée au même titre que la toxine ne fait aucun mal aux cobayes qui la reçoivent dans le cerveau ; — nous sommes donc loin de ce qui se passait avec la toxine iodée qui laissait indemnes bon nombre d'animaux ; il en résulte que la quantité de toxine inoculée ne doit pas être plus petite que la dose minima mortelle.

Nous sommes donc portés à croire que très probablement la toxine n'est pas détruite, mais mise, seulement hors d'état d'agir momentanément.

En tout cas il semble bien évident que la toxine acide est beaucoup plus facilement détruite dans l'organisme que la toxine alcaline.

CHAPITRE III

Injection intra-cérébrale de toxine tétanique.

Le mémoire de MM. Roux et Borrel sur le tétanos cérébral a fait connaître la symptomatologie de cette maladie ; nous n'y reviendrons pas.

Il est un fait cependant sur lequel nous voulons attirer l'attention ; on a beau inoculer dans le cerveau des doses énormes de toxine 1/10 cc., 2/10 cc. on ne peut arriver à supprimer la période d'incubation qui est de 36 heures pour le moins.

Un savant italien, M. Angelo Fonseca (1), prétendit qu'il avait réussi à faire paraître le tétanos cérébral chez les lapins sans aucune incubation, en leur inoculant dans le cerveau 1/4 cc. d'une toxine tétanique concentrée dans le vide au 1/8 de son volume ; la maladie apparaissait dès que l'inoculation était terminée et l'animal mourait en quelques minutes ; en ajoutant du sérum antitétanique à cette toxine concentrée et en inoculant le mélange dans la substance cérébrale d'un lapin, l'auteur constatait que le lapin était très malade, mais se rétablissait ensuite.

1. Angelo Fonseca. *Comp. Rend. Soc. Biol.*, 1898.

Ces résultats établis d'une manière indiscutable, eussent éclairé d'un jour nouveau une des questions les plus controversées de l'histoire des toxines, aussi avons-nous refait toutes ces expériences.

Nous avons reconnu que, même avant la fin de l'inoculation dans le cerveau de toxine tétanique concentré, l'animal est déjà fort malade et pousse des cris de douleur ; il meurt après avoir présenté des symptômes de paralysie, et rien de ce qui peut rappeler seulement de loin des contractures tétaniques ou des symptômes de tétano-cérébral.

Cette toxine concentrée est extrêmement alcaline, mais ce n'est pas la trop grande alcalinité du liquide qui lèse les cellules nerveuses des animaux, car si avec de l'acide chlorhydrique on neutralise la toxine, on ne diminue en rien son pouvoir nocif. Enfin la toxine concentrée chauffée à 100°, mise dans le cerveau des animaux est aussi meurtrière que le bouillon non chauffé.

Tout ceci prouve que M. Angelo Fonseca a tué ses lapins non avec de la toxine tétanique, mais avec des substances toxiques qui se trouvent en trop grande abondance dans le bouillon concentré.

On n'a donc pas encore réussi jusqu'ici à provoquer un tétanos sans incubation.

CHAPITRE IV

Injection intracérébrale de toxine tétanique modifiée par divers agents

Action de la chaleur. — La toxine tétanique est très sensible à l'action de la chaleur. Des travaux de Knud Faber, (1), Kitasato, (2), Vaillard et Rouget (3), il résulte que le poison porté à 65° en vase clos et détruit en moins de 5 minutes, qu'un chauffage à 60° prolongé pendant 20 minutes produit le même effet, qu'il suffit même de soumettre la toxine à l'action d'une température à 55° pendant 1 heure 1/2 pour détruire toutes ses propriétés nocives. Mais à l'inverse de ce qui se passe pour la toxine diphtérique, la toxine tétanique est tout à fait inoffensive ; même inoculée aux animaux en grande quantité elle n'est pas plus dangereuse que du bouillon.

Nous avons inoculé aux animaux comparativement dans le cerveau et sous la peau de la toxine tétanique chauffée. Nous avons ainsi reconnu qu'un chauffage à 65° prolongé pendant 1/4 d'heure modifie assez la toxine

1. Knud Faber : *Berlin. Klin. Wochens.* 1890, n° 31.

2. Kitasato *Zeits. f. Hyg.* X n° 2.

3. Vaillard et Rouget. *Ann. Inst. Past.* 1891, n° 1.

tétanique pour que la dose énorme de 2/10 cc. mise dans le cerveau des lapins et des cobayes les laisse indemnes de toute manifestation de tétanos cérébral.

D'où la conclusion que la chaleur détruit le principe toxique.

Les expériences de M. Vaillard avaient depuis longtemps fait voir que si la température à laquelle est soumise la toxine n'est pas trop élevée et si le chauffage n'est pas trop prolongé, la toxine peut encore donner le tétanos aux animaux, mais il en faut alors des doses énormes, qui se comportent précisément comme des quantités très faibles de toxine non chauffée.

Action de l'iode. — Si nous ajoutons de la liqueur de Gram à la toxine tétanique et si nous répétons avec ce mélange les expériences que nous avons faites avec la toxine diphtérique iodée, nous observons des faits bien différents.

La quantité d'iode mise dans la toxine (mélange à parties égales de toxine et de Gram) est-elle considérable ? Le mélange se montre inoffensif dans le cerveau aussi bien que sous la peau, même inoculé en grande quantité (10 fois la dose mortelle) à des cobayes.

Ajoutons moins d'iode à la toxine), 3 cc. de toxine et 1 cc. de Gram) le mélange sera plus toxique, mais à l'inverse de ce que nous avons vu pour la diphtérie, la même dose dans le cerveau ou sous la peau de cobayes, les laisse vivre ou les tue sans qu'un des deux modes d'inoculation soit plus meurtrier que l'autre.

Dans une de nos expériences, nous avons été à même d'observer un fait intéressant parce qu'il montre, comme

l'ont vu MM. Roux et Borrel (1), que le cobaye est plutôt moins sensible aux inoculations intracérébrales qu'aux inoculations sous-cutanées.

Un cobaye reçoit dans une patte postérieure de la toxine iodée ; au bout de 36 heures la patte est contracturée, mais le tétanos reste localisé et l'animal survit ; un autre cobaye reçoit la même dose dans le cerveau, il reste bien portant sans présenter le moindre symptôme morbide.

Jamais à la suite d'inoculation de toxine iodée nous n'avons observé du tétanos cérébral, ou de contractures localisées dans un membre, débutant longtemps après l'inoculation ; jamais l'incubation n'a duré plus de trois jours. La toxine tétanique agit vite ou n'agit pas du tout.

La conclusion qui découle de nos expériences c'est que l'iode détruit le pouvoir nocif de la toxine tétanique.

Action des acides. — Il n'y a pas lieu d'étudier l'action des acides faibles, comme l'acide tartrique sur la toxine tétanique, car « l'acidification du liquide au moyen de l'acide tartrique ne modifie pas son pouvoir toxique (2) ».

1. Roux et Borrel: *loc cit.*

2. Vaillard. *Ann. Inst. Past.*, 1891, p. 18.

CHAPITRE V

Injection intra-cérébrale d'abrine et de ricine.

Nous étudierons simultanément l'abrine et la ricine, parce que rien dans leurs effets physiologiques ne nous permet de différencier ces deux poisons l'un de l'autre. Comme nous le verrons plus loin, qu'ils soient inoculés avec celui-ci ou avec celui-là, les animaux se comportent toujours de la même façon. Nos observations ne font que confirmer celles de tous les auteurs qui se sont occupés de la question.

L'abrine est une substance vénéneuse qui se trouve dans les graines de jéquirity (*abrus precatorius*), elle a été isolée pour la première fois par Salomonsen et De Christmas (1), Kobert et Hellin (2), puis plus tard Ehrlich (3), Calmette (4), ont à leur tour étudié ces poisons à différents points de vue.

La ricine est un principe très toxique qu'on extrait des

1. Salomonsen et de Christmas. *Fortsch. der med.*, février 1884.

2. Hellin. Thèse. *Dorpat.*, 1891.

3. Ehrlich. *Deuts. med. Wochens.*, 1891, n° 44.

4. Calmette. *Ann. Inst. Past.*, 1896, p. 677.

graines de ricin. Stillmark (1), Ehrlich (2), ont fait des recherches très complètes sur sa nature chimique et son action physiologique.

Ces deux substances présentent de grandes analogies avec les toxines microbiennes; elles jouissent comme elles d'un grand pouvoir toxique et se comportent de la même manière vis-à-vis des agents physiques et chimiques.

La plupart des auteurs ont extrait l'abrine et la ricine des graines qui les contiennent par des procédés chimiques plus ou moins compliqués ou bien ont employé les produits que la maison Merk prépare également par voie chimique. Nous ne les avons pas imités, nous avons préféré utiliser les macérations de jequirity et de ricine qui sont plus actives que tous les produits soi-disant plus purs. Seulement nous avons été obligés de stériliser rigoureusement nos solutions sous peine de voir tous nos animaux mourir avec des microbes dans le sang et les organes.

Comment opérer cette stérilisation? Stépanoff (3) a constaté que des solutions de ricine sont encore actives après filtration sur porcelaine; nous avons recherché s'il en était de même des solutions de jequirity.

50 graines de jequirity, débarrassées de leur épisperme, sont broyées dans un moulin et réduites en fine farine. On fait macérer cette farine dans 50 cc. d'eau distillée stérile dans un endroit frais pendant 24 heures. Le liquide est alors filtré sur papier, puis sur une bougie poreuse

1. Stillmark. *Arb. des Pharm. Inst. zu Dorpat.*, 1889.

2. Ehrlich. *Deut. med. Wochens.*, 1891, n° 32.

3. Stépanoff. *Ann. Inst. Past.*, 1896, n° 11.

(appareil Martin pour filtrer les petites quantités) (1).

La liqueur est certainement moins toxique après la filtration qu'avant, mais elle l'est encore assez pour que 1/100 cc mis sous la peau d'un lapin le tue en 48 à 60 heures, et que 3 ou 4 gouttes instillées sur la conjonctive lui donnent une ophthalmie typique ; le poison est bien assez actif pour nos expériences. C'est un liquide vert clair, légèrement opalin, à réaction neutre au tournesol ; on le conserve à l'obscurité dans des ampoules closes.

Ici nous devons expliquer pourquoi nous nous trouvons en contradiction formelle avec M. de Christmas (2) ; celui-ci soutient en effet que la totalité de la substance active reste sur le filtre. Il faisait macérer la farine de jquirity dans de l'eau pendant $1/2$ heure seulement, filtrait le liquide sur bougie et inoculait concurremment à des animaux le liquide avant la filtration et le liquide filtré. La durée de la macération était insuffisante pour que le principe toxique entre en solution, en sorte que le liquide non filtré contenait le poison sous forme de particules solides, tandis que le liquide filtré n'en contenait pas du tout ; on comprend de suite pourquoi les animaux étaient intoxiqués dans un cas et pas dans l'autre.

Nous préparons notre solution de ricine comme la solution d'abrine :

50 graines de ricin (*ricinus sanguineus*) sont dépouillées de leur épisperme ; elles sont broyées dans une presse entre plusieurs doubles de papier filtre et perdent ainsi

1. Martin. *Ann. Inst. Past.*, 1898, n° 1.

2. De Christmas. *Ann. Inst. Past.* 1897. n° 1.

la plus grande partie de leur huile. La pulpe des graines est alors mise à macérer dans 50 cc. d'eau distillée, dans un endroit frais pendant 24 heures. Le liquide est ensuite filtré sur papier, puis sur une petite bougie Chamberland.

Il est alors limpide comme de l'eau, on le conserve à l'obscurité dans des ampoules closes. La réaction est faiblement alcaline au tournesol.

1 cc. de notre solution d'abrine mis sous la peau d'un lapin de 2 kilogs, le tue en 18 à 20 heures, le poison préparé comme nous l'avons fait est donc beaucoup plus actif que celui qu'on obtient par les autres procédés ; M. Calmette (1) n'a jamais tué ses lapins en moins de 48 heures quelle que soit la dose inoculée dans les veines 1/100 cc. amène la mort en 48 à 60 heures. L'animal inoculé ne devient malade qu'au bout de plusieurs heures, il se tient ramassé dans un coin de sa cage, quand on le couche sur le côté, il se relève difficilement, à la fin de sa vie, il reste étendu sur le flanc. La température s'élève à 40°, 41° au début de la maladie, elle s'abaisse ensuite constamment et se maintient au-dessous de la normale ; déjà plusieurs heures avant la mort, elle oscille aux environs de 32° ; nous avons même observé un animal dont la température est restée au-dessous de 30° pendant plusieurs heures.

A l'autopsie on trouve un intestin grêle toujours congestionné, les vaisseaux se dessinent en fines arborisations à sa surface ; les plaques de Peyer sont rouges, souvent même brunes sur la face péritonéale de l'intestin,

1. Calmette, *Ann. Inst. Past.* 1893, n° 12.

sur sa face interne elles sont saillantes, épaissies et très rouges; la poche glanduleuse (grosse plaque de Peyer qui se trouve au point d'abouchement de l'intestin grêle dans le gros intestin) surtout, est si congestionnée qu'elle est violette presque noire; le cul-de-sac du cœcum, tapissé de follicules clos, qui le font ressembler à une vaste plaque de Peyer, est le siège d'une congestion des plus intenses.

Quelquefois on trouve un épanchement séreux dans la plèvre et le péricarde. Toutes ces lésions sont très accentuées si la dose de poison inoculé est considérable; ce sont d'ailleurs les lésions typiques de l'empoisonnement par l'abrine telles qu'elles sont signalées par tous les auteurs; c'est donc bien l'abrine contenue dans la solution filtrée qui empoisonne les animaux.

La solution de ricine, faite comme nous l'avons indiqué plus haut, est plus toxique que la solution d'abrine; 1/10 cc. inoculé sous la peau d'un lapin le tue en 15 à 20 heures; une dose beaucoup plus forte, 3 cc. par exemple, ne tue pas plus vite; 1/1000 cc amène la mort en quatre jours. Les lésions sont absolument identiques à celles que nous avons relatées plus haut dans l'empoisonnement par le jéquirity.

Quel est le mécanisme de la mort dans ces intoxications? Il a été surtout étudié à propos de la ricine. Stillmark (1), partant de ce fait très intéressant que les solutions de ricine agglutinent les hématies *in vitro*, attribue la mort à une altération du sang. Gonçalves

1. Stillmark : *loc. cit.*

Cruz (1) en s'appuyant sur les données fournies par l'étude anatomo-pathologique des organes pense au contraire « la ricine agit sur le protoplasma des cellules en le détruisant, en mettant hors de service des organes indispensables à la vie ; l'insuffisance néphro-hépatique » suivant lui « joue un très grand rôle dans le mécanisme de la mort ». Flexner (2) avait antérieurement été conduit au même résultat.

Une expérience bien simple va nous permettre de prouver que le poison agit aussi sur la cellule nerveuse. Inoculons dans le cerveau d'un lapin 1/50 000 cc. de notre solution de ricine et sous la peau d'un autre lapin 1/500 cc. de la même solution ; les animaux mourront dans le même temps en 48 à 60 heures. La solution de ricine est donc 100 fois plus toxique dans le cerveau qu'elle n'est sous la peau. Un pareil fait ne peut s'expliquer qu'en admettant que la cellule nerveuse est extrêmement sensible à l'action de la ricine ; il en est de même pour l'abrine. On trouve souvent, il est vrai, au point d'inoculation un foyer de ramollissement dans la substance cérébrale, nous verrons plus loin, dans quels cas cela se produit, mais il suffit que la mort puisse survenir sans lésion macroscopique du cerveau pour que notre conclusion soit exacte ; d'ailleurs l'existence dans le cerveau d'une grosse lésion susceptible d'expliquer la mort, prouve qu'un poison capable de s'attaquer d'une manière aussi énergique aux cellules nerveuses au contact desquelles on le met,

1. Gonçalves Cruz : *Ann. Hgg. pub. et méd. leg.* 1898. XI n° 4.

2. Flexner. *Histological changes produced by ricin and abrin intoxications.* March., 1897.

ne saurait les laisser indemnes, s'il était versé dans la circulation par une inoculation sous-cutanée. La lésion pour n'être pas visible n'en existe pas moins. Ajoutons que c'est bien la toxine qui détermine une lésion, car si la solution d'abrine a été chauffée à 100°, elle peut être inoculée impunément en grande quantité ; d'autre part, qu'il y ait une lésion ou non, les premiers symptômes ne paraissent qu'après une incubation de 12 heures au moins.

L'abrine et la ricine comme les toxines diphtérique et tétanique, empoisonnent donc les cellules nerveuses, mais au lieu de déterminer comme celles-ci dans les centres nerveux des lésions invisibles à l'œil nu, elles produisent souvent de grosses lésions macroscopiques ; quand celles-ci manquent, le poison a dû passer dans la cavité du ventricule et agir sur une grande surface (surface de l'épendyme), la lésion au lieu d'être localisée en un point, s'étend alors en surface, on conçoit donc qu'elle ne soit pas visible.

La toxine tétanique adhère très énergiquement aux cellules nerveuses, la toxine diphtérique point du tout ; avec l'abrine et la ricine les choses sont moins tranchées. Nous avons broyé de la matière cérébrale de lapin dans nos solutions toxiques convenablement diluées avec de l'eau stérile, puis nous avons soumis le mélange au turbinage pour séparer la partie solide de la partie liquide ; celle-ci perd une partie de sa toxicité et ne tue plus les lapins à des doses qui eussent été sûrement mortelles avant son contact avec la matière cérébrale ; mais un poids donné de cerveau fixe beaucoup moins de doses

mortelles d'abrine ou de ricine qu'il ne fixerait de doses mortelles de toxine tétanique.

Nous avons dit que l'abrine est très meurtrière dans le cerveau ; elle se montre en effet comme la ricine au moins 100 fois plus active que quand elle est mise sous la peau ; aussi pour tuer un lapin en 48 à 60 heures il faut lui inoculer $1/100$ cc. sous la peau ou $1/10.000$ cc. dans le cerveau. La toxicité des deux poisons pour la cellule nerveuse est du reste effroyable, $1/1.000.000$ cc. de la solution de ricine mis dans le cerveau peut tuer un lapin en 4 à 5 jours, tandis que $1/10.000$ cc. mis sous la peau ne l'aurait pas fait périr. Un lapin qui avait reçu $1/10.000.000$ cc. de ricine dans le cerveau est mort en 9 jours sans présenter de troubles moteurs, mais un amaigrissement extrême.

Ceci explique pourquoi nous n'avons pu arriver à fixer la dose minima mortelle d'abrine ou de ricine ; la durée de la maladie joue en effet un rôle capital, les animaux peuvent périr cachectiques au bout de plusieurs jours ou même de 2 ou 3 semaines, si la quantité de poison est trop faible pour provoquer une mort rapide : ceci s'observe aussi bien à la suite des inoculations dans le cerveau qu'après celles qui sont faites sous la peau. Toutes nos expériences ont été faites avec des lapins parce qu'ils sont plus sensibles à l'abrine que les cobayes et le sont aussi plus régulièrement (1).

Pour fixer les quantités de poisons, qui mises dans le cerveau produiraient les mêmes effets que d'autres mises

1. Répin. *Ann. Inst. Past.* 1895, p. 518.

sous la peau, pour évaluer en un mot le rapport de toxicité de l'abrine et de la ricine dans le cerveau et sous la peau, on ne peut mettre en regard les doses minima mortelles dans les deux cas. On en est réduit à comparer les quantités de poison, qui, dans les deux modes d'inoculation, tuent dans le même temps. Comme durée arbitraire de la maladie, nous avons choisi l'intervalle de 48 à 60 heures.

Quels sont les symptômes qui suivent l'injection intracérébrale d'abrine ou de ricine ? Ils consistent toujours en troubles moteurs très prononcés et dépendant essentiellement du point où a eu lieu l'inoculation. Dans l'immense majorité des cas en effet, ces troubles ne sont pas symétriques, c'est la tête qui incline à droite ou bien à gauche et qui ramenée sur la ligne médiane s'en écarte de suite, c'est le train de derrière qui penche toujours sur le même côté.

Quand on trouve à l'ouverture du crâne un foyer de ramollissement au point d'inoculation, on s'explique fort bien la dissymétrie des symptômes ; on est donc tout naturellement porté à admettre l'existence d'une lésion microscopique quand on ne la voit pas.

Presque toujours l'animal présente une incoordination motrice très prononcée, il remue ses pattes, souvent agitées par des spasmes violents ; il ne peut se tenir debout, non parce qu'il est paralysé, mais parce qu'il ne peut plus coordonner ses mouvements. Nous ne nous étendrons pas sur les diverses attitudes que peuvent présenter les animaux, elles sont trop variables, n'ont rien de fixe.

La lésion cérébrale macroscopique, quand elle existe, se présente sous l'aspect du ramollissement ; la matière cérébrale est réduite à l'état de bouillie, couleur lie de vin. Quand la dose inoculée dans le cerveau est très faible, on n'observe aucune lésion des organes thoraciques ou abdominaux ; si au contraire l'animal a reçu beaucoup de poison, on peut observer une très légère congestion des plaques de Peyer.

L'animal qui a reçu du poison dans le cervelet présente toujours un mouvement de manège plus ou moins prononcé, causé par une lésion de ramollissement, nous avons même remarqué que les lésions cérébelleuses étaient en général plus prononcées que celles des hémisphères, ce qui tient peut être à la structure du cervelet.

L'inoculation intracérébrale ne détermine pas immédiatement les symptômes de la maladie cérébrale, pendant plusieurs heures l'animal semble se bien porter, en un mot la maladie présente une incubation très notable.

De toute cette étude il résulte que l'abrine et la ricine mis dans le cerveau sont 100 fois plus actifs que mis sous la peau.

CHAPITRE VI

Injection intra-cérébrale d'abrine et de ricine modifiées par divers agents.

Action de la chaleur. — Comme les toxines diphtérique et tétanique l'abrine est une toxine qui, chauffée à des températures relativement peu élevées perd facilement son pouvoir toxique. Ce résultat n'est obtenu qu'au bout d'un temps variable pour chaque température, d'autant plus long que celle-ci est moins élevée; l'abrine chauffée moins de 30 à 40 minutes à 65° est encore active, même chauffée à 90° pendant un instant, elle n'est pas encore totalement dépourvue de toxicité (1).

La chaleur agit-elle sur l'abrine comme elle le fait sur la toxine diphtérique.

Nous avons immergé pendant 1/4 d'heure dans l'eau bouillante des ampoules closes contenant la solution d'abrine préparée comme nous l'avons dit. Le liquide devient très légèrement opalin, comme s'il s'était produit une ébauche de coagulation. Cette toxine ainsi portée à 100° est aussi peu active dans le cerveau que sous la peau. 1/100

1. De Christmas. *Ann. Inst. Past.*, 1897, p. 96.

cc. (dose 100 fois mortelle en 48-60 heures dans le cerveau) mis dans les hémisphères des animaux ne leur fait pas plus de mal que 1 cc. (dose 100 fois mortelle en 48-60 heures sous la peau) mis dans le tissu cellulaire sous-cutané. Le poison n'est pas cependant devenu inoffensif comme le ferait croire cette expérience, car un lapin qui avait reçu la dose énorme de 1,10 cc. dans le cerveau est mort en 4 jours.

La chaleur agit donc sur l'abrine comme sur la toxine diphtérique, en détruisant progressivement tout le poison; celui-ci s'affaiblit de plus en plus, mais peu à peu.

Nous n'avons pu expérimenter sur la ricine chauffée, comme sur l'abrine chauffée, en voici la raison. Si l'on plonge dans l'eau bouillante des ampoules remplies de solution de ricine, il se produit très rapidement une coagulation intense dans le liquide; le caillot tout blanc ressemble à un caillot de fibrine par sa texture; la coagulation se fait de même à 60-64°, si la durée du chauffage est suffisamment prolongée (3 4 d'heure par ex.).

Nous n'avons pu réussir à éviter cette coagulation; ni la dilution de toxine dans 9 fois son volume d'eau, ni une légère addition d'un acide n'ont empêché le liquide de se coaguler à 100°.

Action de l'iode.— L'addition à nos solutions d'abrine et de ricine de leur volume de solution de Gram, détermine la formation d'un précipité extrêmement abondant, qui donne à la liqueur l'aspect d'un jaune d'œuf battu. Il est évident que nous ne pouvons tenter avec un pareil liquide aucune des expériences que nous aurions à faire, nous nous heurterions à trop d'inconnu.

Action des acides.— Quelque soit l'acide,— nous avons employé les acides tartrique, lactique, azotique, chlorhydrique,—dès qu'il se trouve dans la liqueur en quantité suffisante pour que la réaction soit très nettement rouge au tournesol, il se produit un précipité blanc soluble dans les alcalis. Si l'acide ajouté est en proportion assez faible pour que la liqueur soit légèrement acide au tournesol, sa toxicité ne nous a pas semblé diminuée d'une manière notable.

L'addition d'un acide à notre solution de ricine ne produit pas de précipité, mais ne modifie pas sa toxicité.

Action des alcalis.— Les alcalis ont une action marquée sur l'abrine (1) à condition qu'ils se trouvent mélangés à elles en proportion considérable. Verse-t-on une trace de lessive de soude dans la solution d'abrine on voit immédiatement le liquide devenir vert intense tout en restant limpide.

1/10.000 c c., d'un tel poison mis dans le cerveau d'un lapin l'a tué en quatre jours et demi, tandis qu'un animal qui en avait reçu sous la peau 1/10 c c. est encore vivant à l'heure actuelle au bout d'un mois.

La quantité de soude nécessaire pour diminuer la toxicité de l'abrine en inoculation sous-cutanée rend le liquide très caustique ; l'action de l'alcali vient donc s'ajouter à celle de la toxine pour blesser les cellules nerveuses.

Les alcalis agissent sur la ricine comme sur l'abrine.

1. Roux. *Ann. Inst. Past.*, 1891, p. 520.

CONCLUSIONS

Nous croyons pouvoir tirer de notre travail les conclusions suivantes :

1° La toxine diphtérique mise dans le cerveau des animaux est dix fois plus active que mise sous leur peau. Elle détermine dans le premier cas une paraplégie, suivie d'une paralysie ascendante aiguë presque constamment mortelle.

2° L'abrine et la ricine sont cent fois plus actives dans le cerveau que sous la peau ; la maladie causée par une inoculation intra-cérébrale est caractérisée par des troubles moteurs consistant en une incoordination très prononcée des mouvements ; ces troubles sont en rapport avec le point d'inoculation qui est souvent le siège d'une lésion macroscopique.

3° La chaleur détruit la toxine diphtérique, cette destruction se fait peu à peu, si bien qu'une toxine chauffée se comporte comme une toxine plus ou moins diluée. Le chauffage rend aussi le poison plus facilement destructible par les cellules de l'organisme.

La chaleur détruit peu à peu l'abrine comme la toxine diphtérique.

4° La liqueur de Gram détruit la toxine diphtérique et la toxine tétanique.

5° L'acide tartrique eu excès dissous dans la toxine diphtérique retarde l'action de celle-ci.

Vu : le Doyen,
BROUARDEL

Vu : le Président de la thèse,
CHANTEMESSE.

Vu : et permis d'imprimer,
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris
GRÉARD.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	9
CHAPITRE I. — Injection intracérébrale de toxine diphtérique.	13
CHAPITRE II. — Injection intra-cérébrale de toxine diphtérique modifiée par divers agents	22
CHAPITRE III. — Injection intra-cérébrale de toxine tétanique.	32
CHAPITRE IV. Injection intracérébrale de toxine tétanique mo- difiée par divers agents	34
CHAPITRE V. — Injection intra-cérébrale d'abrine et de ricine.	37
CHAPITRE VI. — Injection intra-cérébrale d'abrine et de ri- cine modifiées par divers agents	47
CONCLUSIONS.	50

